

Rev. Cienc. Tecnol.

Año 11 / N° 12 / 2009 / 27-33

## ***Aeromonas* spp. involucradas en infecciones extraintestinales diagnosticadas en centros de salud de Posadas, Misiones**

Marina, Quiroga; María Teresa Lezcano; Bibiana Martín Talavera

### ***Aeromonas* spp. involved in extraintestinal infections diagnosed in health centers of Posadas, Misiones**

#### ABSTRACT

We studied 21 *Aeromonas* strains involved in extraintestinal infections diagnosed in health centers of Posadas in the period 2002-2006. A 90.5 % of the isolations were coming from skin, wounds and bone infections. The average age of the patients was 53 years old, with predominance of males. The susceptibility to different antimicrobial agents was determined. Hydrolysis on  $\beta$ -lactams and the presence of  $\beta$ -lactamases were investigated by the iodometric method on agar and by phenotypic methods, respectively.

All of the strains showed hydrolytic activity in front of two or more  $\beta$ -lactams. By phenotypic methods, the production of inducible  $\beta$ -lactamases was detected but no  $\beta$ -LEE and metallo- $\beta$ -lactamases were detected.

Our results support the hypotheses that it would be possible that the resistance acquired in *Aeromonas* spp. is associated to the use of antimicrobial agents and mediated by enzymatic mechanisms and selective pressure caused by excess of prescriptions.

KEY WORDS: *Aeromonas*, extraintestinal infections, susceptibility, antimicrobial agents.

#### RESUMEN

Estudiamos 21 cepas de *Aeromonas* involucradas en infecciones extraintestinales diagnosticadas en centros de salud de Posadas en el período 2002-2006. El 90,5 % de los aislamientos provenían de infecciones de piel, partes blandas y hueso. La edad promedio de los pacientes fue de 53 años, con predominio del sexo masculino.

Se determinó la sensibilidad a diferentes antimicrobianos. La hidrólisis de  $\beta$ -lactámicos y la presencia de  $\beta$ -lactamasas se investigaron por el método iodométrico en agar y por métodos fenotípicos, respectivamente.

Todas las cepas mostraron actividad hidrolítica frente a dos o más  $\beta$ -lactámicos. Se detectó fenotípicamente la producción de  $\beta$ -lactamasas inducibles no así la de  $\beta$ -LEE ni de metalo- $\beta$ -lactamasas.

Nuestros resultados apoyan las hipótesis de que sería posible que la resistencia adquirida en *Aeromonas* spp. esté asociada al uso de antimicrobianos y mediada por mecanismos enzimáticos y presión selectiva causada por exceso de prescripciones.

PALABRAS CLAVE: *Aeromonas*, infecciones extraintestinales, susceptibilidad, antimicrobianos.

## INTRODUCCIÓN

Los miembros de la familia *Aeromonadaceae* han sido reconocidos hace más de 100 años. Durante muchos años, el mayor foco de atención respecto a esta familia se centró en su rol como patógenos de reptiles, anfibios y en especial, peces.

En 1968, una publicación de Von Graevenitz y Mensch [1] hizo que el estudio de estos microorganismos derivara hacia su rol como potenciales patógenos humanos.

Actualmente, la participación de estos microorganismos en gran variedad de infecciones humanas ha sido documentado mundialmente [2, 3], sugiriendo una etiología compleja en que las cepas poseen una variedad de factores de virulencia en diferentes asociaciones [4].

De entre los síndromes clínicos documentados destacan: bacteriemias y septicemias en pacientes inmunodeprimidos

[5, 6, 7]; meningitis tanto en niños como en adultos [8]; peritonitis [9]; infecciones de tejidos blandos y huesos [6]; infecciones del tracto respiratorio en inmunocompetentes [10] e inmunocomprometidos [11,12]; raras infecciones oculares [13, 14]; y síndrome urémico hemolítico [15].

En los últimos años, ha sido informado su aislamiento en prostatitis y shock séptico [16]; fascitis necrotizante [17]; traqueobronquitis [18]; cistitis [19], entre otras infecciones humanas.

Respecto a su resistencia a antimicrobianos, diversos autores han propuesto que las especies de *Aeromonas* son capaces de adaptarse rápidamente a las drogas usadas comúnmente en medicina, representando un riesgo a la salud pública [20].

Por otra parte, ya ha sido informado [21, 22] que en estos microorganismos el inóculo bacteriano y la producción de múltiples  $\beta$ -lactamasas, que se caracterizan por ser

inducibles, es crítica para la manifestación de un fenotipo de resistencia.

En la última década, han aumentado los informes acerca de una alta mortalidad relacionada a infecciones extraintestinales causadas por *Aeromonas* spp., en especial en pacientes inmunocomprometidos [17, 23, 24].

Algunos microbiólogos [25] opinan que esto podría ser debido al poco conocimiento existente acerca de los patrones de resistencia que exhiben estas cepas extraintestinales, lo que impediría establecer un tratamiento empírico exitoso.

Por lo antes expuesto, hemos desarrollado este trabajo con el objetivo de conocer algunos rasgos epidemiológicos, estudiar la sensibilidad a antimicrobianos y detectar la presencia de enzimas  $\beta$ -lactamasas en cepas de *Aeromonas* involucradas en infecciones extraintestinales diagnosticadas en pacientes internados en distintos centros de salud de la ciudad de Posadas, Misiones, Argentina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Microorganismos

Se incluyeron en el estudio 21 cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de infecciones extraintestinales en el período 2002–2007, en pacientes internados en el Hospital Central “Dr. Ramón Madariaga” y sanatorios privados de la ciudad de Posadas, Misiones.

Las cepas, conservadas en agar blando (caldo tripticasa soya, CTS + 7 0/00 agar-agar) a temperatura ambiente y en la oscuridad, fueron transferidas a placas de agar sangre, con técnica para aislamiento, a fin de corroborar su viabilidad y pureza.

La identificación bioquímica se realizó según metodología convencional [26].

### Estudio de sensibilidad a antimicrobianos

Se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por el método de dilución en medio líquido según normas y puntos de corte definidos por el CLSI [27].

Se ensayaron los siguientes antimicrobianos (droga pura de potencia conocida): ampicilina (AMN), gentamicina (GEN), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS) y ciprofloxacina (CIP) de laboratorios Bagó, sulbactama (en asociación con ampicilina) (AMS) y cloranfenicol (CMP) de laboratorios Pfizer, cefalotina (CTN) y ceftazidima (CAZ) de Glaxo, cefotaxima (CTX) de Hoechst Marion Roussel, cefepima (FEP) y amicacina (AKN) de Bristol-Myers Squibb e imipenem (IMP) de Merck-Sharp and Dohme, todos ellos de Argentina.

Como controles se utilizaron cepas patrones: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 y

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Los ensayos se realizaron por duplicado.

### Estudio de la actividad hidrolítica frente a $\beta$ -lactámicos

Los ensayos de hidrólisis de  $\beta$ -lactámicos de las cepas en estudio se realizaron por el método iodométrico en agar [28] trabajando con extractos enzimáticos crudos.

Para la obtención del extracto enzimático, una ansada de un cultivo de 24 hs de cada microorganismo fue transferida a un tubo estéril conteniendo 5 ml de caldo tripticasa soya (CTS) el que se incubó en incubador Shaker a 120 r.p.m, 35 °C durante 6 hs. Luego del período de incubación, 1 ml del CTS fue transferido a un tubo cónico estéril conteniendo 9 ml de CTS fresco que se incubó a 120 r.p.m, 35° C durante 18 hs adicionales.

Cumplidos estos pasos se procedió a centrifugar los tubos a 5000 r.p.m. durante 20 minutos, con enfriamiento a 4 °C cada 5 minutos.

El sobrenadante fue descartado y el sedimento se resuspendió en 5 ml de buffer fosfato 20 mM, pH 7 y se reiteró el proceso de centrifugación descrito.

Se descartó el sobrenadante y los pellets fueron resuspendidos en 3 ml de buffer fosfato 20 mM, pH 7 y sometidos a agitación con vórtex.

La ruptura celular se realizó por un proceso de congelación (-20 °C)/descongelación (temperatura ambiente), 10 veces.

Los restos celulares se eliminaron por centrifugación a 12000 r.p.m. a 4 °C durante 15 minutos.

Los extractos enzimáticos crudos fueron alicuotizados y conservados a -20° C hasta su utilización.

Para realizar el método iodométrico en agar [28], a 20 ml de medio de agar-almidón (0,5 gr de almidón soluble + 1,5 gr de agar-agar en 100 ml de buffer fosfato 0,1 M pH 7,0), fundido y termostatzado a 45 °C, se adicionó el substrato en concentración adecuada y 320  $\mu$ l de una solución de  $I_2 / I^-$  (2 %  $I_2$ , 55 % IK). La mezcla se homogeneizó y se volcó en placas de vidrio de 9 cm de diámetro. Una vez solidificado, se sembraron en cada placa 20  $\mu$ l de los extractos enzimáticos crudos. Las placas fueron incubadas a 4 °C, al abrigo de la luz durante 18 hs. Las lecturas se realizaron cada 4 hs.

Se ensayaron los siguientes substratos (concentración final): ampicilina (AMN, 500  $\mu$ g/ml), cefalotina (CTN, 500  $\mu$ g/ml), oxacilina (OXA, 500  $\mu$ g/ml), cefoxitina (FOX, 1000  $\mu$ g/ml) e imipenem (IMP, 1000  $\mu$ g/ml).

La formación de un punto de decoloración en el sitio de depósito de la gota, debida a la reducción del iodo en presencia de los productos originados por la hidrólisis enzimática de los distintos antibióticos, fue considerada indicativo de la presencia de enzimas  $\beta$ -lactamasas en los extractos (reacción positiva).

Los ensayos se realizaron por duplicado.

### Búsqueda de $\beta$ -lactamasas

La búsqueda de la presencia de  $\beta$ -lactamasas se realizó por métodos fenotípicos.

Los discos de antimicrobianos utilizados CTN (30  $\mu$ g), FOX (30  $\mu$ g), CAZ (30  $\mu$ g), CTX (30  $\mu$ g), cefotaxima-clavulánico (CTX-clav, 30/10  $\mu$ g) y ceftazidima-clavulánico (CAZ-clav, 30/10  $\mu$ g) así como los discos con los inhibidores ácido etilendiaminotetracético (EDTA, 372  $\mu$ g) y ácido borónico (BOR, 300  $\mu$ g) fueron provistos por Laboratorios Britania, Argentina. Los discos de IMP fueron provistos por OXOID, Argentina y los de amoxicilina-clavulánico (AMC, 20/10  $\mu$ g) por BBL, Argentina.

Como control positivo se utilizó la cepa *Aeromonas hydrophila* AE036.

La producción de  $\beta$ -lactamasas inducibles tipo AmpC se investigó con la técnica propuesta por Sanders [29] con discos de IMP y FOX, y el ensayo de sinergia con ácido borónico [30] con discos de CTN y FOX.

Para la búsqueda de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEE) se utilizaron: la metodología descrita por Jarlier [31] con discos de CAZ, CTX y AMC; y la propuesta por el CLSI con discos de CTX, CAZ, CTX-clav y CAZ-clav [32].

La búsqueda de metalo- $\beta$ -lactamasas se realizó utilizando el ensayo de Hodge modificado [33] con discos de IMP; el método descrito por Yong con discos de IMP e IMP/EDTA [34] y el ensayo de sinergia con discos de IMP y EDTA [33].

## RESULTADOS

Durante el Período 2002–2006 se recuperaron, de muestras clínicas extraintestinales, 21 cepas de *Aeromonas* spp. En el 76,2 % de dichas muestras, *Aeromonas* spp. fue el único microorganismo recuperado.

Diecinueve aislamientos (90,5 %) provenían de infecciones de piel, partes blandas y hueso: 6 de heridas cortantes, 6 de traumatismos óseos, 3 de úlceras infectadas, 2 de heridas quirúrgicas y 1 de pie diabético. En 1 caso sólo se informó herida sin mayor especificación. Las cepas restantes fueron recuperadas, 1 de líquido abdominal y 1 de absceso pulmonar.

La edad promedio de los pacientes involucrados fue de 53 años (rango 11–71 años), predominando los de sexo masculino (81 %).

Se identificaron: 19 *A. hydrophila* (90,4 %), 1 *A. jandaei* (4,8 %) y 1 *A. schubertii* (4,8 %).

Los resultados obtenidos en los estudios de sensibilidad (CIM<sub>90</sub>) se muestran en la Tabla 1.

Todos los extractos enzimáticos de las cepas en estudio mostraron actividad hidrolítica frente a dos o más  $\beta$ -lactámicos. AMN, IMP, OXA y FOX fueron los antimicrobianos más afectados.

El 100 % de los extractos hidrolizaron a AMN e IMP simultáneamente. De ellos, 11 (52,4 %) hidrolizaban también OXA y FOX, 3 (14,3 %) CTN, OXA y FOX, 2 (9,5 %) CTN y OXA, 1 (4,8 %) FOX y 1 (4,8 %) CTN (Tabla 2).

**Tabla 1.** CIM<sub>90</sub> a distintos antimicrobianos de 21 cepas extraintestinales de *Aeromonas* spp.

Antimicrobiano	CIM90 ( $\mu$ g/ml)	Rango ( $\mu$ g/ml)
AMN	128	32–256
AMS	64/32	4/2–128/64
CEF	256	8–512
CTX	0,25	0,015–0,5
CAZ	0,5	0,015–2
FEP	0,125	0,03–0,5
IMP	1	0,06–4
CIP	0,5	0,004–1
CMP	2	0,25–2
TMS	0,5/9,5	0,008/0,15– 8/152
GEN	1	0,125–1
AKN	1	0,06–1

AMN: ampicilina, AMS: ampicilina-sulbactama, CEF: cefalotina, CTX: cefotaxima, CAZ: ceftazidima, FEP: cefepima, IMP: imipenem, CIP: ciprofloxacina, CMP: cloramfenicol, TMS: trimetoprima-sulfametoxazol, GEN: gentamicina, AKN: amikacina.

**Tabla 2.** Hidrólisis de  $\beta$ -lactámicos por el método iodométrico de extractos crudos de 21 cepas extraintestinales de *Aeromonas* spp.

Nº de cepas que hidrolizaron*	% de cepas que hidrolizaron*	Antimicrobianos				
		AMN	CTN	OXA	FOX	IMP
n=11	52,4	+	-	+	+	+
n=3	14,3	+	+	+	+	+
n=3	14,3	+	-	-	-	+
n=2	9,5	+	+	+	-	+
n=1	4,8	+	-	-	+	+
n=1	4,8	+	+	-	-	+
Total (%)		21 (100)	6 (28,6)	16 (76,2)	15 (71,4)	21 (100)

\*método iodométrico, AMN: ampicilina, CTN: cefalotina, OXA: oxacilina, FOX: cefoxitina, IMP: imipenem, +: positivo, -: negativo.

Utilizando FOX e IMP como inductores, en 12/21 (57,1 %) de los aislamientos se detectó la presencia de  $\beta$ -lactamasas inducibles, comportándose FOX (10/12; 83,3 %) como mejor inductor que IMP (6/12; 50 %). Cuatro (4) aislamientos dieron resultado positivo con ambos antimicrobianos.

La sinergia con ácido borónico y cefalotina (11/21, 52,4 %) fue mejor indicador de la presencia de  $\beta$ -lactamasas inducibles que dicha sinergia con cefoxitina (6/21, 28,6 %). Cinco (5) de estos aislamientos dieron un resultado positivo con ambos antimicrobianos.

Ninguna de las cepas de *Aeromonas* estudiadas mostraron fenotípicamente la producción de  $\beta$ LEE ni de metalo- $\beta$ -lactamasas.

## DISCUSIÓN

*Aeromonas* spp., microorganismos ubicuos de medios acuáticos, presentan una distribución mundial.

Son agentes etiológicos de enfermedades en peces, reptiles y anfibios, siendo recuperados frecuentemente de agua, suelos y alimentos [2, 35].

El rol de estos microorganismos en gran variedad de infecciones humanas ha sido documentado mundialmente

[2, 36, 37], siendo poco frecuente su aislamiento en infecciones extraintestinales tanto adquiridas en la comunidad como hospitalarias.

A pesar de las dificultades que implica su caracterización fenotípica [38], la diferenciación de cepas individuales de *Aeromonas* a nivel de especie es de importancia clínica y epidemiológica dada la variabilidad inter-especie en sus factores de virulencia, en los perfiles de susceptibilidad a antimicrobianos y en la distribución geográfica [39].

La identificación de los aislamientos incluidos en este estudio coincide con lo referido en la literatura, donde se informa que sólo cinco especies: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas veronii* biotipo *sobria* y biotipo *veronii*, *Aeromonas jandaei* y *Aeromonas schubertii*, han sido incuestionablemente establecidas como patógenos humanos, en virtud a su aislamiento (en cultivo puro) de infecciones extraintestinales. De ellas *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* y *Aeromonas veronii* biotipo *sobria* representan más del 85 % de los aislamientos clínicos [2].

Analizando los resultados, observamos que la edad promedio de nuestros pacientes (53 años, rango 11–71 años) coincide con lo referido por otros autores [40, 41]. Por otro lado, el predominio de las infecciones en hombres en nuestro trabajo (81 %), también es coincidente con lo relatado en la literatura [40, 41, 42, 43].

Esta relación de infecciones extraintestinales por *Aeromonas*, edad adulta y sexo masculino, podría deberse a la mayor posibilidad, en dicha franja etaria y género, de sufrir enfermedades malignas y enfermedades de base asociadas como enfermedades crónicas del hígado y cirrosis [44].

El mayor porcentaje (90,5 %) de nuestros aislamientos provenían de infecciones de piel, partes blandas y hueso. Probablemente, los principales factores de riesgo pueden haber sido las lesiones en contacto con agua contaminada, el suelo o cuerpos extraños. Hallazgos que han sido ampliamente descritos en la literatura [45, 46].

En nuestro estudio, sólo en el 23,8 % de los casos, *Aeromonas* spp. se encontraban asociadas a otros microorganismos. Dicho porcentaje es menor a otros informes de la literatura [40, 45, 47].

La sensibilidad a antimicrobianos tanto de aislamientos clínicos, particularmente de origen intestinal, como ambientales de *Aeromonas* spp. ha sido ampliamente estudiada [35, 48, 49] presentándose como intrínsecamente susceptible a todos los antimicrobianos activos frente a bacilos Gram negativos no fastidiosos, con excepción de los  $\beta$ -lactámicos.

En este estudio, la sensibilidad de los aislamientos extraintestinales refleja lo informado por otros autores [2, 49, 50]. Los hallazgos mostraron ser uniformemente resistentes a ampicilina y susceptibles a las cefalosporinas de 3<sup>o</sup> y 4<sup>o</sup> generación, carbapenemes, aminoglucósidos, cloranfenicol y ciprofloxacina, presentando un bajo nivel de resistencia a trimetoprima-sulfametoxazol y alta resistencia a cefalotina

y al inhibidor sulbactama.

En cepas de *Aeromonas* ha sido descrita la presencia de múltiples  $\beta$ -lactamasas (cefaloporinas de clase molecular C, oxacilinas de clase molecular D, metalo- $\beta$ -lactamasas de clase molecular B) [51, 52, 53], cada una de las cuales muestra selectividad frente a distintos sustratos, pero que al expresarse en conjunto se superponen.

La presencia de mecanismos enzimáticos participantes en la resistencia a  $\beta$ -lactámicos de nuestras cepas, también fue observada en este estudio.

Se demostró la presencia de  $\beta$ -lactamasas inducibles, por métodos fenotípicos, en más del 50 % de las cepas.

Ya ha sido descrito [54, 55] que muchas especies bacterianas, entre ellas *Aeromonas* spp., poseen  $\beta$ -lactamasas cromosómicas inducibles que normalmente se expresan a muy bajos niveles. Sin embargo, en presencia de un inductor dicha producción enzimática se incrementa.

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos difieren en su poder inductor, siendo cefoxitina e imipenem los más potentes. En este estudio, cefoxitina se comportó como mejor inductor que imipenem.

El aspecto clínico más importante de este fenómeno, es la emergencia de cepas resistentes que se asocian a fallas terapéuticas, ya que, por presión antibiótica, podrían emerger mutantes resistentes con síntesis de  $\beta$ -lactamasas genéticamente desreprimida [56].

Respecto a la producción de  $\beta$ LEE en cepas de *Aeromonas*, no es un evento frecuente. En la Argentina, recién en el año 2007, se realizó el primer informe de aislamiento de *Aeromonas* spp. portadora de  $\beta$ LEE [57], hecho que no hemos detectado en este estudio.

Los extractos celulares mostraron actividad hidrolítica frente a penicilinas, cefalosporinas e imipenem, lo que indicaría la presencia de al menos dos enzimas diferentes, entre ellas una capaz de hidrolizar imipenem.

Esta conclusión se basa en el hecho de que en *Aeromonas* spp., las enzimas capaces de hidrolizar imipenem son consideradas verdaderas carbapenemasas, ya que poseen escasa actividad hidrolítica frente a sustratos diferentes a los carbapenemes [21].

La ausencia de su detección fenotípica podría deberse a que la expresión de metalo- $\beta$ -lactamasas en *Aeromonas* tiene niveles basales, siendo necesaria su inducción ó desrepresión para detectarlas fenotípicamente, aspecto que hemos observado en nuestras cepas [58] y que fuera ya descrito por otros autores [59].

## CONCLUSIONES

Nuestros resultados apoyan las hipótesis de otros autores quienes refieren que sería posible que la resistencia adquirida en *Aeromonas* spp. esté asociada al uso de antimicrobianos [60] y mediada por mecanismos enzimáticos y presión selectiva causada por un exceso de prescripciones [20].

Si bien las infecciones extraintestinales por *Aeromonas* spp. no son frecuentes y las enzimas que producen, al ser de origen cromosómico, no resultan particularmente preocupantes todavía, la amplia difusión de estos microorganismos en el medio ambiente los transforma en excelentes reservorios.

Por otra parte, el uso de antibióticos no ha disminuido, menos aún en áreas en desarrollo, por lo que no sería descabellado imaginar un futuro donde la presión selectiva nos enfrente a aislamientos multirresistentes, con el consecuente problema terapéutico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- VON GRAEVENITZ A., MENSCH A. *The genus Aeromonas in human bacteriology: report of 30 cases and review of the literature*. N. Engl. J. Med. 1968; 278:245–9.
- JANDA J., ABBOTT S. *Evolving concepts regarding the genus Aeromonas: an expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions*. Clin. Infect. Dis. 1998; 27:332–44.
- JONES B., WILCOX M. *Aeromonas infections and their treatment*. J. Antimicrob. Chemother. 1995; 35:453–61.
- MOYER N. *Clinical significance of Aeromonas species isolated from patients with diarrhea*. J. Clin. Microbiol. 1987; 25:2044–8.
- BARILLO D., MCMANUS A., CIOFFI W., MCMANUS W., KIM S., PRUITT B. JR. *Aeromonas bacteremia in burn patients*. Burns. 1996; 22:48–52.
- JANDA J., ABBOTT S. *Human pathogens*. En: *The genus Aeromonas*. Austin B., Altwegg M., Gosling P., Joseph S., eds. John Wiley & Sons. Chichester, England. 1996; pp.151–173.
- PURDUE G., HUNT J. *Aeromonas hydrophila infection in burn patients*. Burns. 1988; 14:220–1.
- PARRAS F., DÍAZ M., REINA J., MORENO S., GUERRERO C., BOUZA E. *Meningitis due to Aeromonas species: case report and review*. 1993; Clin. Infect. Dis. 17:1058–60.
- MUÑOZ P., FERNÁNDEZ BACA V., PELÁEZ T., SÁNCHEZ R., RODRÍGUEZ CRÉIXEMS, M., BOUZA E. *Aeromonas peritonitis*. Clin. Infect. Dis. 1994; 18:32–7.
- BADDOUR L., BASELSKI B. *Pneumonia due to Aeromonas hydrophila complex: epidemiologic, clinical, and microbiologic features*. South Med. J. 1988; 81:461–3.
- STECIW A., COLODNY S. *Empyema due to Aeromonas hydrophila*. Clin. Infect. Dis. 1994; 18:474–5.
- TAKANO Y., ASAO Y., KOHRI Y., OIDA K., IMANAKA T. *Fulminant pneumonia and sepsis due to Aeromonas hydrophila in an alcohol abuser*. Intern. Med. 1996; 35:410–2.
- FRIELING J., ROSENBERG R., EDELSTEIN M., COLBY S., KOPELOTWIZ N. *Endogenous Aeromonas hydrophila endophthalmitis*. Ann. Ophthalmol. 1989; 21:117–8.
- SIRE J., ROPERT P., DONNIO P. *Aeromonas hydrophila blepharoconjunctivitis*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1990; 9:904–5.
- BOGDANOVIC R., COBELJIC M., MARKOVIC V., NIKOLOVIC V., OGNJANOVIC M., SARJANOVIC L., MAKIC D. *Haemolytic-uraemic syndrome associated with Aeromonas hydrophila enterocolitis*. Pediatr. Nephrol. 1991; 6:221–2.
- HUANG H.C., YU W.L., HUAN K.H., CHENG K.C., CHUANG Y.C. *Aeromonas sobria prostatitis and septic shock in a healthy man with chronic alcoholic consumption*. Jpn. J. Infect. Dis. 2007; 60(6):400–1.
- CUI H., HAO S., AROUS E. *A distinct cause of necrotizing fasciitis: Aeromonas veronii biovar sobria*. Surg. Infect. (Larchmt). 2007; 8(5):523–8.
- BOSSI-KÜPFER M., GENINI A., PEDUZZI R., DEMARTA A. *Tracheobronchitis caused by Aeromonas veronii biovar sobria after near-drowning*. J. Med. Microbiol. 2007; 56 (Pt 11):1563–4.
- AL-BENWAN K., ABBOTT S., JANDA J.M., HUYS G., ALBERT M.J. *Cystitis caused by Aeromonas caviae*. J. Clin. Microbiol. 2007; 45(7):2348–50.
- BIZANI D., BRANDELLI A. *Antimicrobial susceptibility, hemolysis, and hemagglutination among Aeromonas spp. isolated from water of a bovine abattoir*. Braz. J. Microbiol. 2001; 32:334–9.
- ROSSOLINI G., WALSH T., AMICOSANTE G. *The Aeromonas metallo-β-lactamases: genetic, enzymology, and contribution to drug resistance*. Microb. Drug. Res. 1996; 2:245–52.
- ROSSOLINI G., ZANCHI A., CHIESURIN A., AMICOSANTE G., SATTÀ G., GUGLIEMETTI P. *Distribution of cphA or related carbapenemase-encoding genes and production of carbapenemase activity in members of the genus Aeromonas*. Antimicrob. Agents Chemother. 1995; 39:346–9.
- STANO F., BRINDICCI G., MONNO R., RIZZO C., GHEZZANI F., CARBONARA S., GUAGLIANONE E., DONELLI G., MONNO L. *Aeromonas sobria sepsis complicated by rhabdomyolysis in an HIV-positive patient: case report and evaluation of traits associated with bacterial virulence*. Int. J. Infect. Dis. 2009; 13(3):e113–8.
- CLARK N.M., CHENOWETH C.E. *Aeromonas infection of the hepatobiliary system: report of 15 cases and review of the literature*. Clin. Infect. Dis. 2003; 37(4):506–13.
- BALOTESCU C., ISRAIL A., RADU R., ALEXANDRU I., DOBRE G. ROUM. *Aspects of constitutive and acquired antibiostance in Aeromonas hydrophila strains isolated from water sources*. Arch. Microbiol. Immunol. 2003; 62(3–4): 179–89.
- ABBOTT S., CHEUNG W., JANDA J.M. *The genus Aeromonas: biochemical characteristics, atypical reactions and phenotypic identification schemes*. J. Clin. Microbiol. 2003; 41:2348–57.
- Clinical Laboratory Standards Institute. *Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria*. 2006; M45–A. Vol. 26 No. 19, Wayne, Pa, USA.

28. **QUINTEROS M., CORSO A., GALAS M., GUTKIND G., ROSSI A.** *Clave orientadora para la detección de  $\beta$ -lactamasas. C10 Libro de Resúmenes. II Congreso Internacional de SADE-BAC. 1990. Argentina*
29. **SANDERS C., SANDERS W.** *Emergence of resistance to cefamandole: possible role of cefoxitin-inducible  $\beta$ -lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 1979; 15:792-7.*
30. **SONG W., BAE I.K., LEE Y.N., LEE C.H., LEE S.H., JEONG S.H.** *Detection of extended-spectrum beta-lactamases by using boronic acid as an AmpC beta-lactamase inhibitor in clinical isolates of Klebsiella spp. and Escherichia coli. J. Clin. Microbiol. 2007; 45(4):1180-4.*
31. **JARLIER V., NICOLÁS M., FOURNIER G., PHILLIPON A.** *Extended broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev. Infect. Dis. 1988; 10:867-78.*
32. **Clinical Laboratory Standards Institute.** *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. 2007; M100-S17. Vol. 27 No. 1, Wayne, Pa, USA.*
33. **LEE K., CHONG Y., SHIN H.B., KIM Y.A., YONG D., YUM J.H.** *Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- $\beta$ -lactamase-producing strains of Pseudomonas and Acinetobacter species. Clin. Microbiol. Infect. 2001; 7(2):88-102.*
34. **YONG D., LEE K., YUM J.H., SHIN H.B., ROSSOLINI G.M., CHONG Y.** *Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo- $\beta$ -lactamases-producing clinical isolates of Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp. J. Clin. Microbiol. 2002; 40(10):3798-3801.*
35. **BENASSI F., VERGARA M., VON SPECHT M., GARCÍA M., QUIROGA M., PUCCIARELLI A., ZUBRESKI E., LACZESKI M., MARTIN B., LEARDINI N., GUTKIND G.** *Estudio de susceptibilidad a antibióticos  $\beta$ -lactámicos en Aeromonas spp. de origen clínico, animal y ambiental. Rev. Arg. Microbiol. 2001; 33(1):47-51.*
36. **LECLERC H., SCHWARTZBROD L., DEI-CAS E.** *Microbial agents associated with waterborne diseases. Crit. Rev. Microbiol. 2002; 28(4):371-409.*
37. **VON GRAEVENITZ A.** *The role of Aeromonas in diarrhea: a review. Infection. 2007; 35(2):59-64.*
38. **CARNAHAN A., BEHRAM S., JOSEPH S.** *Aerokey II: a flexible key for identifying clinical Aeromonas species. J. Clin. Microbiol. 1991; 29:2843-49.*
39. **HSUEH P., TENG L., LEE L., YANG P., CHEN Y., HO S., LUH K.** *Indwelling device-related and recurrent infections due to Aeromonas species. Clin. Infect. Dis. 1998; 26:651-8.*
40. **TENA D., GONZÁLEZ-PRAETORIUS A., GIMENO C., PÉREZ-POMATA M T., BISQUERT J.** *Infección extraintestinal por Aeromonas spp.: revisión de 38 casos. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2007; 25(4):235-41.*
41. **LLOPIS F., GRAU I., TUBAU F., CISNAL M., PALLARES R.** *Epidemiological and clinical characteristics of bacteremia caused by Aeromonas spp. as compared with Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. Scand. J. Infect. Dis. 2004; 36(5):335-41.*
42. **LAU S.M., PENG M.Y., CHANG F.Y.** *Outcomes of Aeromonas bacteremia in patients with different types of underlying disease. J. Microbiol. Immunol. Infect. 2000; 33(4):241-7.*
43. **KO W.C., CHUANG Y.C.** *Aeromonas bacteremia: review of 59 episodes. Clin. Infect. Dis. 1995; 20(5):1298-304.*
44. **Secretaría de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias. Subsecretaría de Relaciones Sanitarias e Investigación en Salud. Dirección de Estadísticas e Información de Salud. Sistema Estadístico de Salud. Estadísticas Vitales. Información Básica - 2005. 2005; Serie 5-Número 49.**
45. **GOLD W.L., SALIT I.E.** *Aeromonas hydrophila infections of skin and soft tissue: report of 11 cases and review. Clin. Infect. Dis. 1993; 16(1):69-74.*
46. **RAMOS J.M., CUENCA-ESTRELLA M., ESTEBAN J., SORIANO F.** *Infección de partes blandas por Aeromonas hydrophila. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 1995; 13:469-72.*
47. **SEMEL J.D., TRENHOLME G.** *Aeromonas hydrophila water-associated traumatic wound infections: a review. J. Trauma. 1990; 30(3):324-7.*
48. **FRAISSE T., LECHICHE C., SOTTO A., LAVIGNE J.P.** *Aeromonas spp. infections: retrospective study in Nîmes University Hospital, 1997-2004. Pathol. Biol. (Paris). 2008; 56(2):70-6.*
49. **SADER H.S., JONES R.N.** *Antimicrobial susceptibility of uncommonly isolated non-enteric Gram-negative bacilli. Int J Antimicrob Agents. 2005; 25(2):95-109.*
50. **KO W.C., YU K.W., LIU C.Y., HUANG C.T., LEU H.S., CHUANG Y.C.** *Increasing antibiotic resistance in clinical isolates of Aeromonas strains in Taiwan. Antimicrob. Agents Chemother. 1996; 40(5):1260-2.*
51. **HAYES M., THOMSON C., AMYES S.** *The hidden carbapenemase of Aeromonas hydrophila. J. Antimicrob. Chemother. 1996; 37:33-44.*
52. **WALSH T., PAYNE D., MACGOWAN A., BENNETT P.** *A clinical isolate of Aeromonas sobria with three chromosomally mediated inducible  $\beta$ -lactamases: a cephalosporinase, a penicillinase and a third enzyme, displaying carbapenemase activity. J. Antimicrob. Chemother. 1995; 35:271-9.*
53. **WALSH T., STUNT R., NABI J., MACGOWAN A., BENNETT P.** *Distribution and expression of  $\beta$ -lactamase genes among Aeromonas spp. J. Antimicrob. Chemother. 1997; 40:171-8.*
54. **BEDENITT B., ZAGAR Z.** *Clinical and laboratory significance of inducible beta-lactamases. Lijec Vjesn. 1995; 117(9-10):249-53.*
55. **SHANNON K., PHILLIPS I.** *The effects on beta-lactam susceptibility of phenotypic induction and genotypic derepression of beta-lactamase synthesis. J. Antimicrob. Chemother. 1986; 18 Suppl. E: 15-22.*
56. **PHILLIPS I., SHANNON K.** *Importance of beta-lactamase induction. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1993; 12 Suppl. 1:S19-26.*

57. FERREIRO M., MACHAIN M., GAZENEZZO M., FONTANAZZA A., RAPAPORT M., GALAS M., PASTERAN F. *Primer aislamiento de Aeromonas portadora de  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE) en Argentina*. Rev. Arg. Microbiol. 2007; 39(Supl.1):78.

58. QUIROGA M., LEZCANO M.T., MARTIN TALAVERA B., CÁCERES M.G., VERGARA M. *Behavior against  $\beta$ -lactams in resistant variants of Aeromonas spp. selected in vitro under antibiotic pressure*. J. Chemother. *En prensa*.

59. FOSSE T., GIRAUD MORIN C., MADINIER I. *Phenotypes of beta-lactam resistance in the genus Aeromonas*. Pathol. Biol. (Paris). 2003; 51(5):290–6.

60. MALUPING R.P., LAVILLA PITOGO C.R., DEPAOLA A., JANDA J.M., KROVACEK K., GREKO C. *Antimicrobial susceptibility of Aeromonas spp., Vibrio spp. and Plesiomonas shigelloides isolated in the Philippines and Thailand*. Int. J. Antimicrob. Agents. 2005; 25:345–53.

Recibido: 28/08/09.

Aprobado: 26/09/09.

- Marina Quiroga  
Bioquímica. Especialista en Microbiología Clínica. Doctor de la Universidad de Buenos Aires, área microbiología. Profesor Adjunto. Cátedra Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN. UNaM. Categoría III. marinaquiroga@fceqyn.unam.edu.ar.
- María Teresa Lezcano  
Bioquímica. Becaria Investigación CEDIT. Cátedra Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN. UNaM. Sin Categoría. terelezmaci@ yahoo.com.ar.
- Bibiana Martín Talavera  
Bioquímica. JTP. Cátedra Microbiología General, Carrera Ingeniería Química, FCEQyN. UNaM. Categoría IV. bmartin@fceqyn.unam.edu.ar.

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Av. Mariano Moreno 1375. (3300) Posadas, Misiones.